Цитратный синтез наночастиц золота

Цитратный синтез наночастиц золота

Введение.

1. Синтез наночастиц золота.

2. Применение наночастиц золота в медицине.

3. Материалы с использованием наночастиц золота.

4. Синтез наночастиц золота, стабилизированных 6,6-ионеном.

5. Синтез наночастиц золота, стабилизированных цетилтриметиламмоний бромидом.

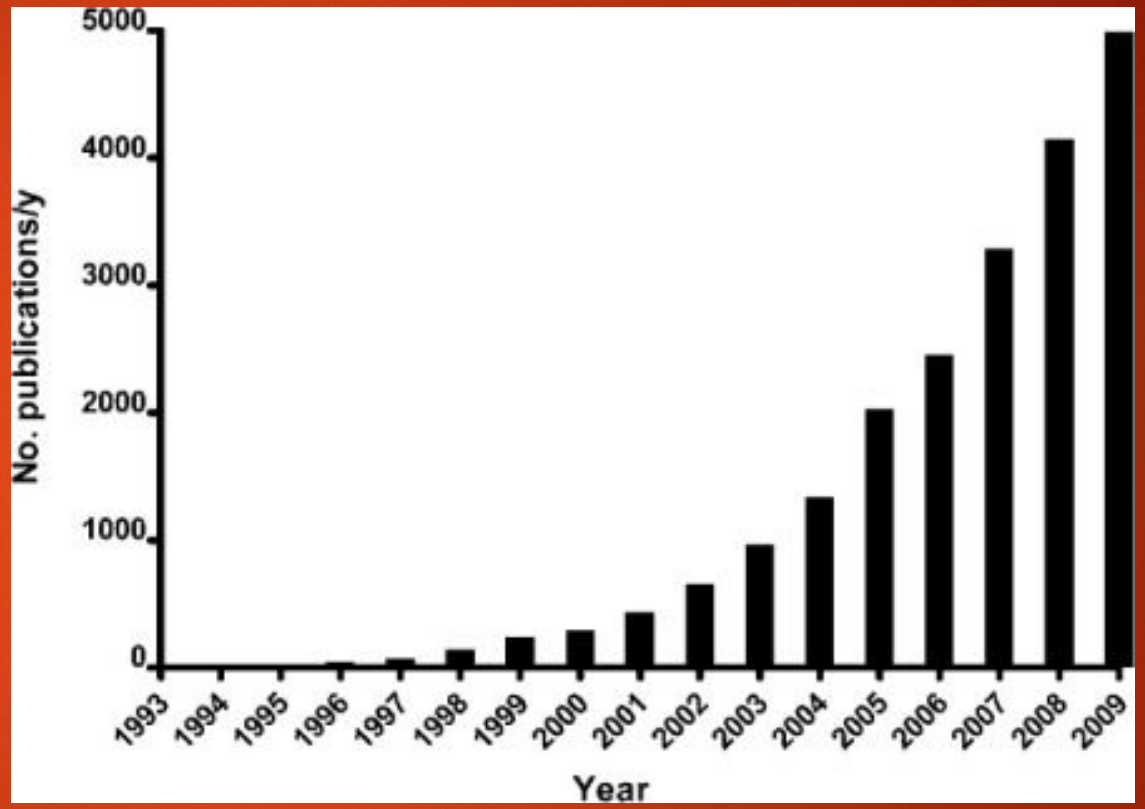
6. Эксперементальная часть.

Заключение.

Использованная литература.

Введение

В последние годы наблюдается бурный рост исследований наночастиц золота, с быстрым ростом публикаций в различных областях, в том числе в визуализации, биоинженерии и молекулярной биологии (рисунок 1). Вполне вероятно, что это имеет отношение к аналогичному расширению более широкой области нанотехнологий, повышению осведомленности и государственного финансирования, а также быстрый прогресс в области химического синтеза и молекулярной биологии.



Наночастицы золота не являются новыми. На самом деле золотые наночастицы используются, пусть и неосознанно, уже несколько тысячелетий. Римские ремесленники, например, знали, что размешивая хлористое золото в расплавленном стекле (эту технику используют для создания крошечных золотых сфер) последнее получит богатый рубиновый или розово-лиловый цвет. Используя такой способ окраски стекла, было создано множество произведений искусства: от стекол в кафедральных соборах по всей Европе, до знаменитого Кубка Ликурга (IV век н. э).

Конечно, стеклодувы того времени ничего не знали об оптических аспектах описанного выше процесса и создания частиц, диаметр которых составляет всего несколько нанометров. Современные представления о химии им были абсолютно недоступны. Важным этапом развития нанотехнологий можно назвать 1857 год, когда английский физик и химик Майкл Фарадей установил, что коллоиды золота обладают рядом особых оптических и электрических свойств. Ученый пришел к такому выводу, когда использовал фосфор для восстановления хлорида золота, из которого он однажды и получил взвесь наночастиц этого металла. Хотя Фарадей и другие его современники работали над созданием надежной техники получения коллоидного золота, наномир оставался для них тайной, даже несмотря на то, что характеристики подобных частиц уже тогда вполне можно было наблюдать и измерять. В конце 20-го века, такие методы, как просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) и атомно-силовая микроскопия (АСМ), позволили осуществить непосредственную визуализацию наночастиц золота и контроль свойств, таких как размер и поверхностное покрытие.

Синтез наночастиц золота

Для спектрофотометрического и визуально-колориметрического определения ионов металлов, анионов и органических соединений, как правило, используют наночастицы золота сферической формы со средним диаметром 10 – 50 нм, которые получают химическим восстановлением золотохлористоводородной кислоты. В качестве восстановителя чаще всего используют цитрат натрия, боргидрид натрия; другие восстановители применяют реже.

Процесс образования наночастиц протекает через ряд последовательных стадий: возникновение отдельных атомов; зародышеобразование и формирование начального атомного кластера; рост кластера до определенного размера; стабилизация наночастиц (рис. 1). Размеры и дисперсность формируемых наночастиц, а также их устойчивость во времени регулируют варьированием природы стабилизатора и его количества.

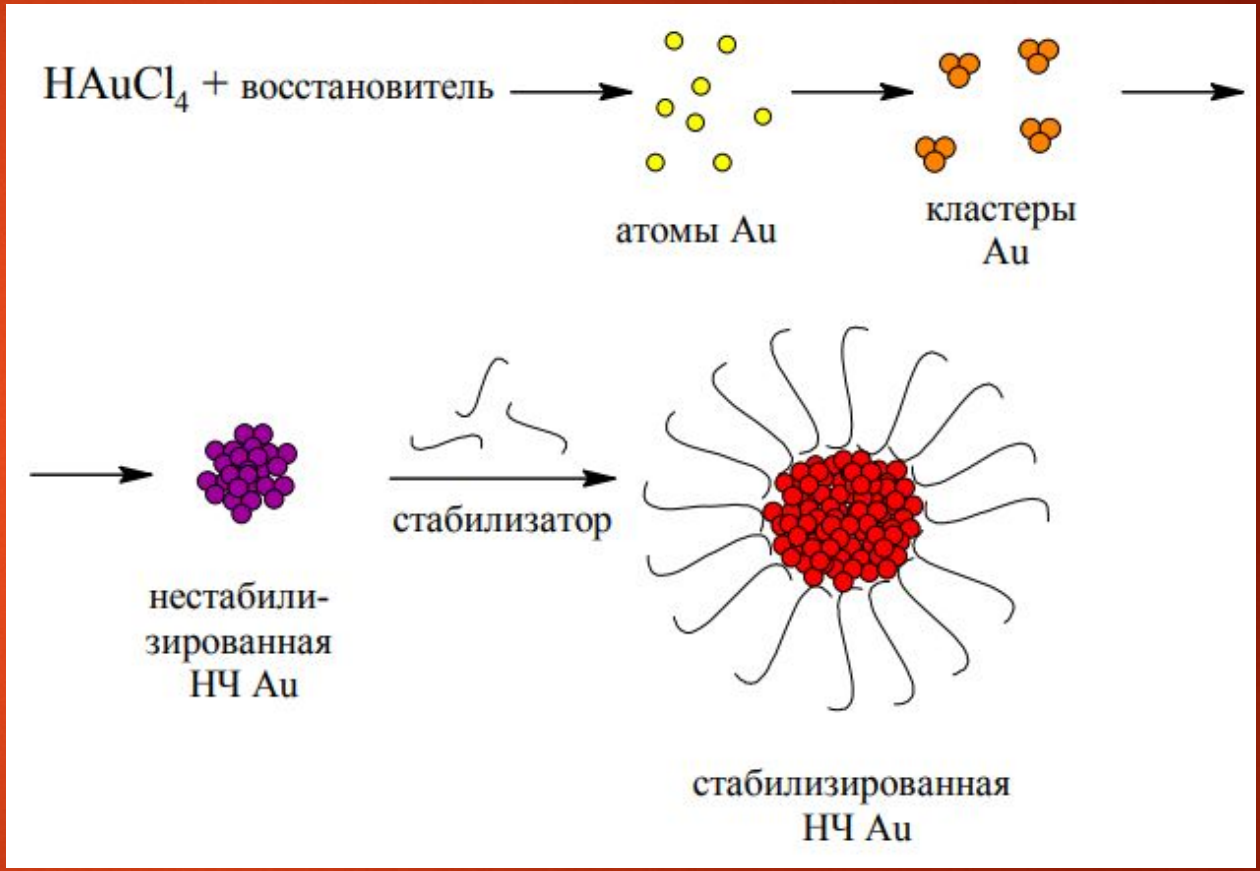


Рис.1 Стабилизация наночастиц

В качестве стабилизаторов при синтезе монодисперсных наночастиц золота используют избыток восстановителя, а также специально вводимые вещества: ионогенные поверхностно-активные вещества, например, додецилсульфат натрия или хлорид лаурилтриметиламмония, ионные жидкости, либо синтетические или природные полимеры – поливинилпирролидон, полиэтиленгликоль, циклодекстрины, хитозан и другие.

Наиболее популярным способом получения наночастиц золота является метод Туркевича, основанный на восстановлении золотохлористоводородной кислоты цитратом натрия, а также различные его модификации. Размер наночастиц от 10 до 150 нм можно контролировать, меняя соотношение между цитратом натрия (который в этом случае выполняет функцию не только восстановителя, но и стабилизатора) и золотохлористоводородной кислотой.

В основе уникальных оптических свойств наночастиц золота лежит явление поверхностного плазмонного резонанса. *Поверхностный плазмонный резонанс* - это резонансное колебание электронов проводимости на границе раздела отрицательной и положительной диэлектрических проницаемостей материала, стимулируемое падающим светом. Оно возникает как следствие коллективного поведения делокализованных электронов проводимости на поверхности частицы, которое проявляется во взаимодействии с внешними электромагнитными полями. Это приводит к появлению в спектрах поглощения максимумов, отвечающих наступлению условий резонанса при совпадении частоты электромагнитного излучения с собственной частотой колебаний поверхностных плазмонов.

Применение наночастиц золота в медицине

Золото имеет долгую историю применения в области биомедицины, насчитывающую почти пять тысяч лет. Самые ранние найденные записи, в которых упоминается об использовании золота в медицине, приводят нас в Китай 2500 года до н.э., и именно с этого времени появляются свидетельства использования металла некоторыми древними культурами в качестве основы для медицинских препаратов против различных болезней.

Не так давно и с большим успехом медикаменты, содержащие золото, стали применяться для лечения ревматоидного артрита и, более того, было проведено важное исследование, касающееся потенциальных антираковых и антимикробных свойств соединений золота. Возможно, самым лучшим примером использования золота в биомедицине является технология ***Aurimune***™, в которой для доставки необходимой терапевтической дозы медикамента прямо к раковой опухоли используются присущие золоту биосовместимость и уникальные характеристики. Данный проект уже прошел первую стадию клинических испытаний (тестирование на небольшой группе людей, целью которого является подтверждение того, что препарат действует так, как и ожидалось). Более того, уже начались работы на следующем, втором этапе (более крупномасштабное исследование, целью которого является обнаружение возможных побочных действий, пропущенных ранее).

Важной демонстрацией потенциала полифункциональных наночастиц золота для доставки лекарственных средств было использование 5 нм наночастиц в качестве средств доставки, ковалентно связанных с цетуксимабом, как активным целенаправленным агентом и гемцитабином в качестве терапевтического полезного груза при раке поджелудочной железы. Эта важная работа продемонстрировала, что наночастицы золота могут выступать не просто в качестве пассивных переносчиков лекарственных средств, но также могут влиять на препарат-клеточные взаимодействия и усиливать терапевтический эффект.

Наномедицинские исследования остаются относительно незрелой отраслью, и полное клиническое воздействие наночастиц золота на человека пока не известно. Разрабатывается множество новых нанокомплексов для лечения рака, и существует необходимость провести клинические испытания.

В 2004 году была образована Лаборатория характеризации нанотехнологий (NCL) благодаря официальному сотрудничеству между тремя американскими федеральными организациями: Национальным институтом рака, Управлением за контролем качества пищевых продуктов и медикаментов США и Национальным институтом стандартов и технологий 39). Эта лаборатория выполняет и стандартизирует доклиническую характеристику наноматериалов, предназначенных для лечения рака.

Первое средство с использованием наночастиц золота, достигшее ранней фазы клинических испытаний, - это CYT-6091, 27-нм наночастицы золота с цитратным покрытием, связанные с тиолированным ПЭГ и фактором некроза опухоли-альфа (TNF-α), который имеет двойной эффект повышения адресности опухоли и токсичности опухоли.

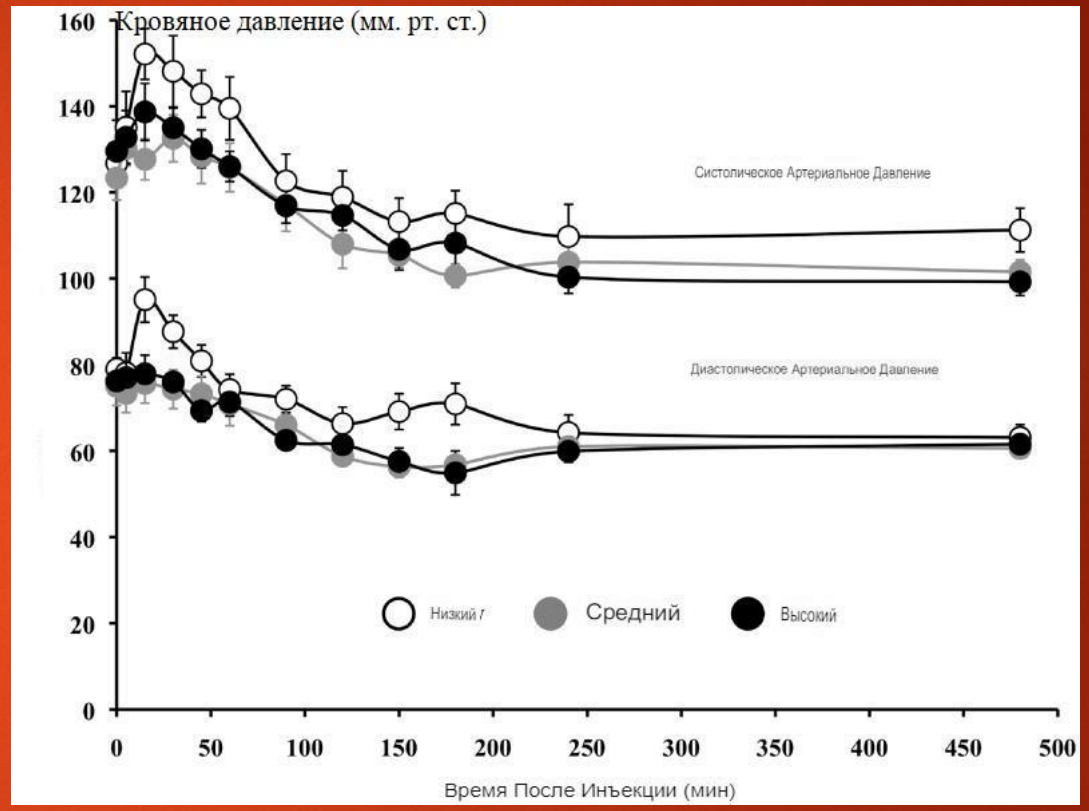
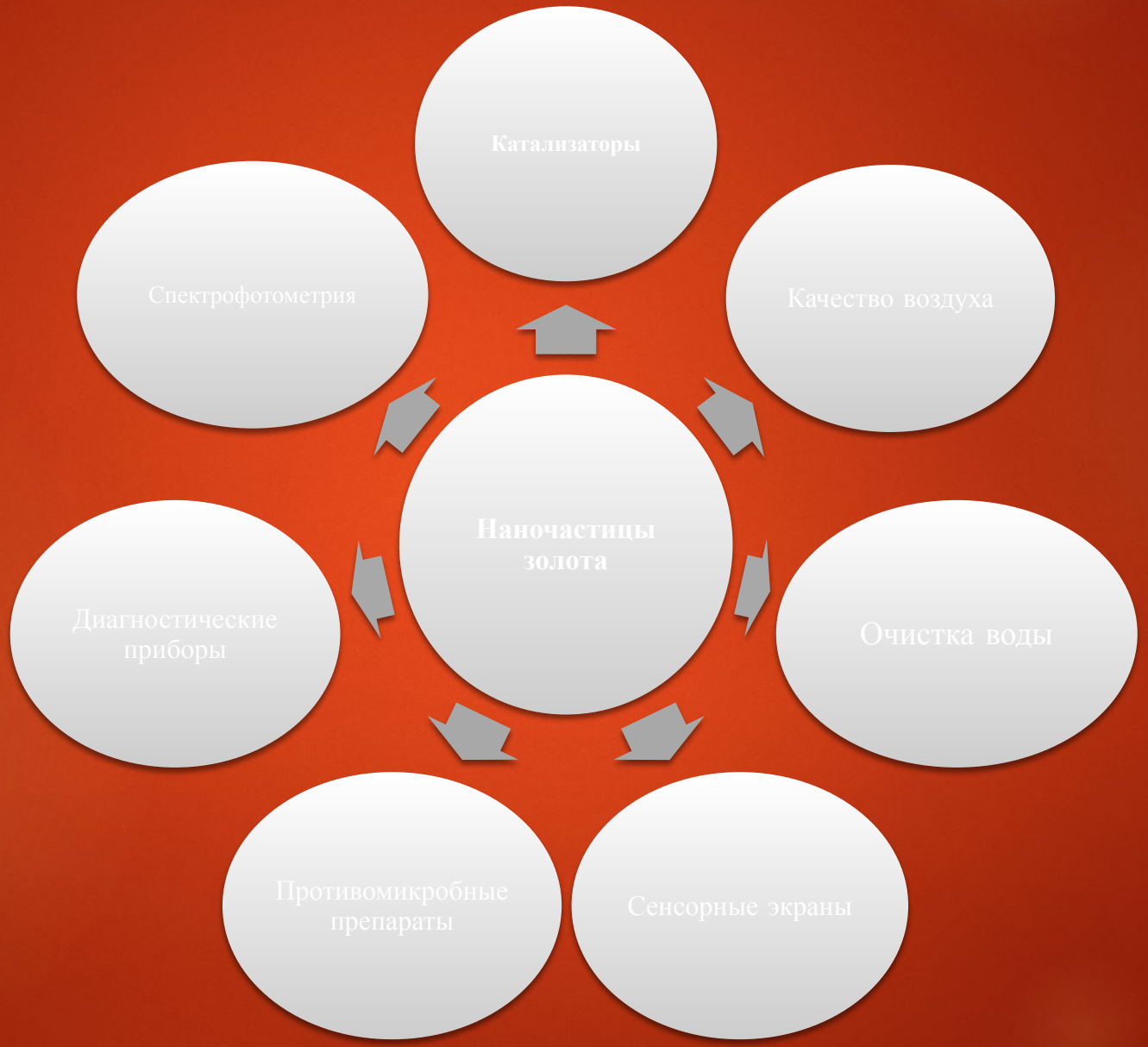


Рис. 2 Влияние CYT-6091 на артериальное давление. Среднее систолическое АД не опускалось ниже 80 мм рт. ст., порога гипотензии, требующего медицинского вмешательства.

Материалы с использованием наночастиц золота



Синтез наночастиц золота, стабилизированных 6,6-иононом.

Наночастицы золота, стабилизированные 6,6-иононом, устойчивы к воздействию тиосоединений и соединений катионной природы, а также в присутствии однозарядных анионов.

Агрегация таких наночастиц происходит лишь при взаимодействии с многозарядными анионами. Наночастицы агрегируют в присутствии 1 мг/мл сульфата, пирофосфата и оксалата, которые присутствуют в условиях эксперимента в значительной степени в виде многозарядных частиц. Взаимодействия наночастиц с такими анионами как карбонат и фосфат при той же концентрации отмечено не было, поскольку эти анионы протонируются и переходят в однозарядные частицы.

Предполагаемая схема агрегации наночастиц стабилизированных 6,6-иононом под воздействием анионов представлена на рис. 3. Связывание наночастиц происходит за счет электростатического взаимодействия многозарядного аниона с положительно заряженными четвертичными аммониевыми группами на поверхности наночастиц.

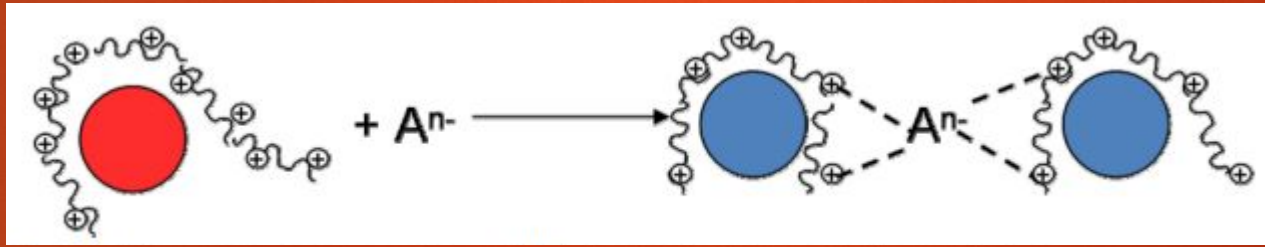


Рис. 3 Предполагаемая схема агрегации наночастиц стабилизированных 6,6-иононом под воздействием многозарядных анионов.

Как и в случае цитратных наночастиц, агрегация наночастиц золота, стабилизированных 6,6-ионеном, протекает полностью менее чем за 2 мин. Зависимость *Аагр/А520* от pH в отсутствие многозарядных анионов (рис. 4а, кривая 1), в отличие от наночастиц, стабилизированных цитратом, которые агрегируют в кислой среде, характеризуется резким подъемом в области pH > 10, что говорит о неустойчивости наночастиц стабилизированных 6,6-ионеном в щелочной среде. Агрегация наночастиц под воздействием пирофосфата происходит в более узком диапазоне pH, чем для сульфата, что, по-видимому, связано с протонированием пирофосфата в кислых средах и переходом его из трехзарядного (гидропирофосфат) в двухзарядный (дигидропирофосфат, pKa 6,70) анион (рис. 4б).

Концентрация полученных наночастиц составляла 73 мкг/мл. Такие наночастицы заряжены положительно.

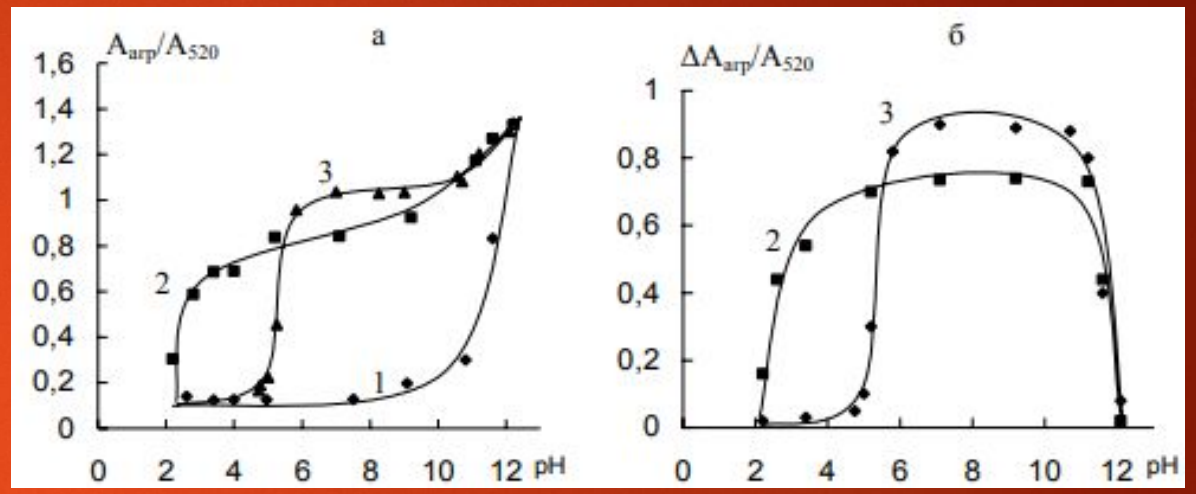


Рис. 4. Зависимость отношения Аагр/А520 от pH раствора в отсутствие (1) и в присутствии 0,1 мг/мл сульфата (2), и 0,07 мг/мл пирофосфата (3) (а) и соответствующая разность сигналов (б).

Синтез наночастиц золота, стабилизированных цетилтриметиламмоний бромидом.

В качестве восстановителя используется боргидрид натрия, в качестве стабилизатора – цетилтриметиламмоний.

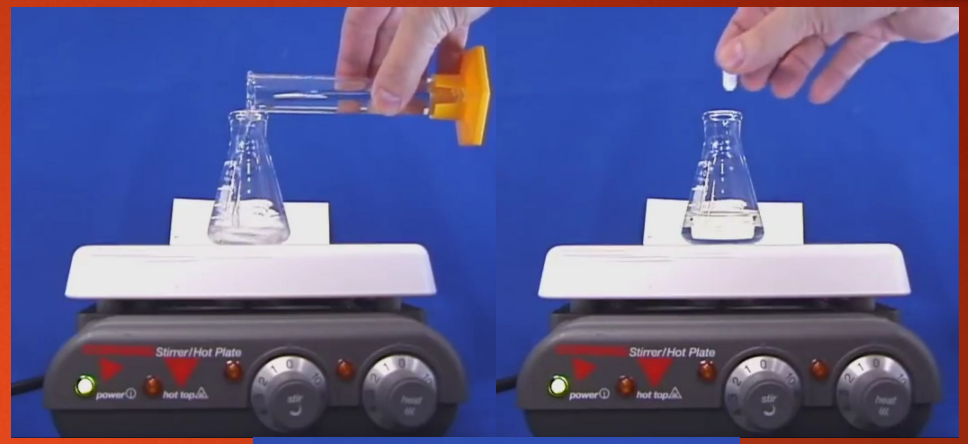
К 10 мл 0,012 М раствора хлорида цетилтриметиламмония по каплям при интенсивном перемешивании добавляли 10 мл 0,05 % раствора $HAuCl_4$, полученный раствор перемешивали 15 мин. Затем по каплям при перемешивании добавляли 20 мл 0,05 % раствора $NaBH_4$. После перемешивания в течение 30 мин раствор выдерживали 1 сутки для полной стабилизации наночастиц и завершения процессов перекристаллизации. Концентрация наночастиц золота, синтезированных таким образом, равна 73 мкг/мл.

Экспериментальная часть

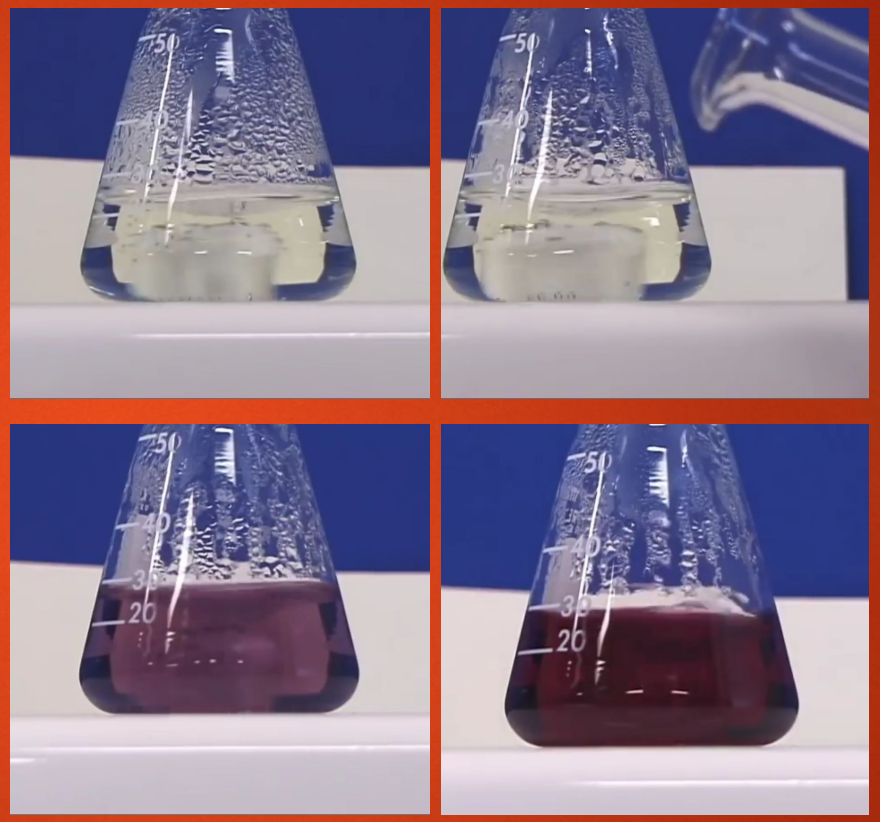
В данной работе используется еще один метод синтеза наночастиц золота – *цитратный*. В качестве восстановителя и стабилизатора использовали цитрат натрия. К преимуществам наночастиц, полученных таким способом, можно отнести узкое распределение по размерам, интенсивную полосу поглощения в водных растворах при 520 нм, а также способность относительно легко агрегировать в присутствие некоторых соединений, что приводит к появлению в спектре поглощения полосы агрегатов наночастиц при 650 – 750 нм.

Таким образом, целью настоящей работы и является получение наночастиц золота, где в качестве стабилизатора используется цитрат натрия.

В начале добавили 20 мл 1,0 мм HAuCl4 (тетрахлороаурат водорода) в 50 мл колбу Эрленмейера на горячей плите с перемешиванием. В процессе добавили магнитную мешалку и довели раствор до кипения.

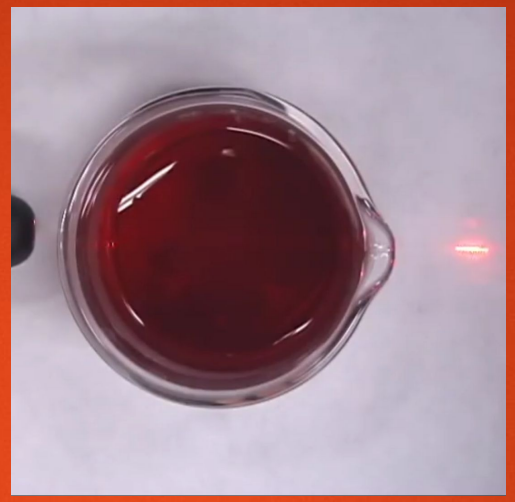


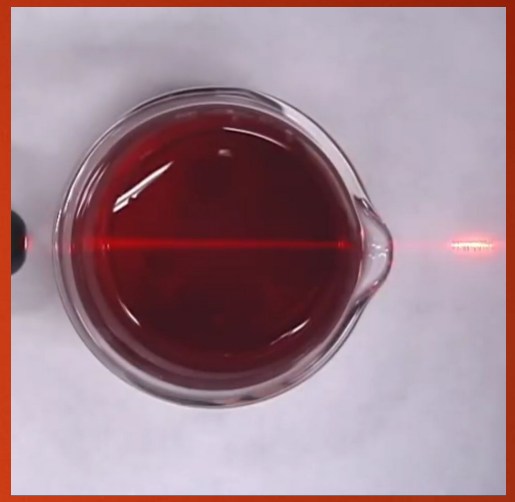
Затем к быстро перемешиваемому кипящему раствору был быстро добавлен 2 мл 1% раствора дигидрата тринатрийцитрата, $Na_3C_6H_5O_7.2H_2O$. Было нетрудно заметить, что золь золота постепенно образуется по мере того, как цитрат восстанавливает золото (III). После истечения примерно 10 минут раствор стал темно-красного цвета. (Кадры взяты из фильма. Пробелы в данном фильме указывают на равные промежутки времени. Общее затраченное время примерно в 10 раз превышает продолжительность фильма).

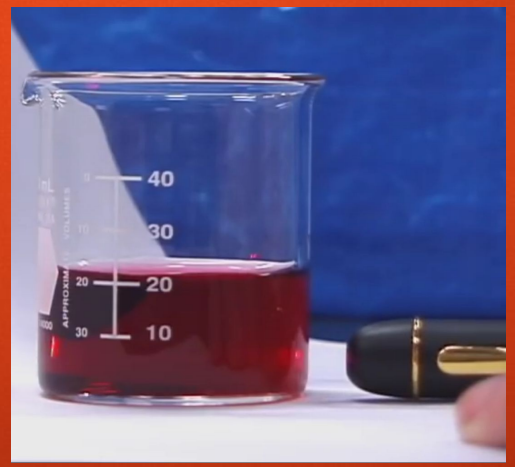


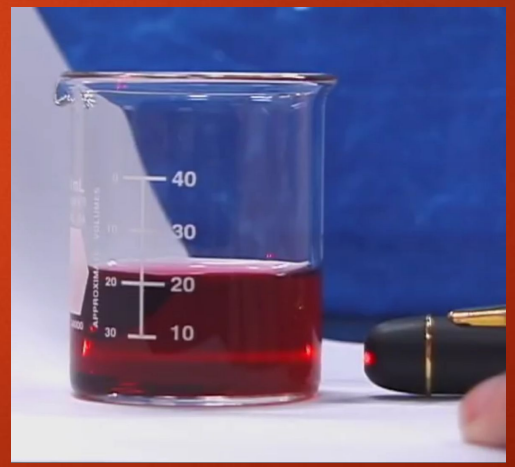
Присутствие коллоидной суспензии (рассеивание светового луча) можно обнаружить по отражению лазерного луча от частиц.

Свет от лазерной указки может быть поляризован. Когда поляризованный свет вызывает излучение плазмонов, луч может исчезать под некоторыми углами. Когда лазерный луч виден, он невидим при виде, перпендикулярном первому.

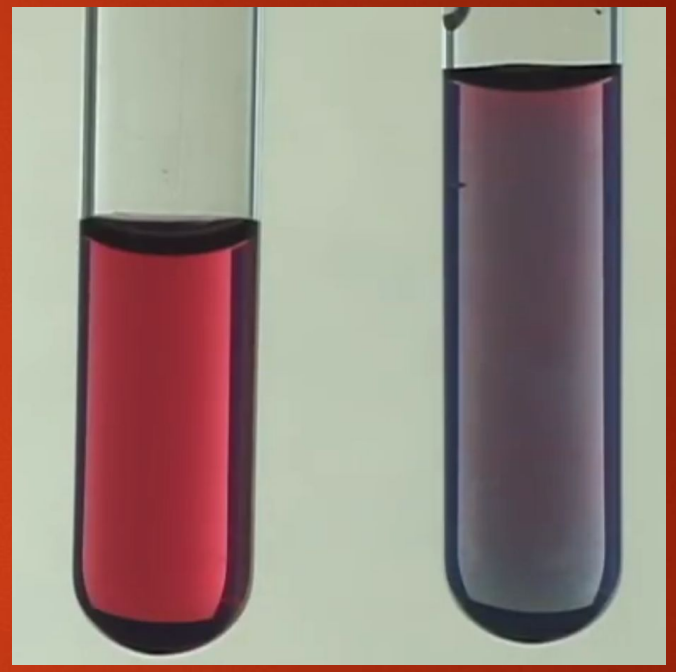








Также было нетрудно заметить, как изменяется цвет, когда добавление хлорида в наш раствор приводит к сближению частиц.



Заключение

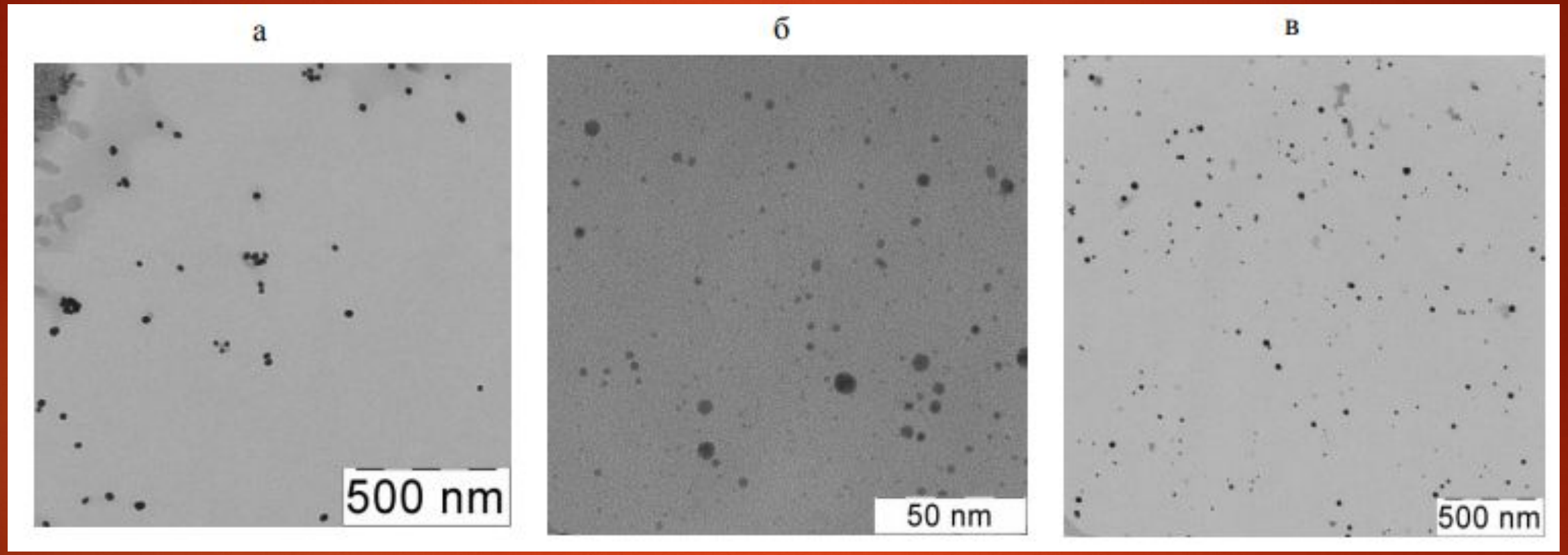
Свойства материалов изменяются на наноуровне. В массе на макроуровне элемент золота имеет золотистый цвет, но на наноуровне элемент золота имеет цвет от красного до фиолетового. Следовательно, образование наночастиц золота можно наблюдать по изменению цвета, поскольку маленькие наночастицы золота имеют красный цвет. Слой поглощенных анионов цитрата на поверхности наночастиц разделяет наночастицы, и присутствие этой коллоидной суспензии можно обнаружить по отражению лазерного луча от частиц. Переключение на меньший анион позволяет частицам приблизиться ближе, и наблюдается другое изменение цвета.

Перед добавлением восстановителя золото находится в растворе в форме Au + 3. При добавлении восстановителя в растворе образуются атомы золота, и их концентрация быстро возрастает, пока раствор не превысит насыщение. Затем частицы образуются в процессе, называемом зарождением. Оставшиеся растворенные атомы золота связываются с участками зарождения, и происходит рост.

Точный механизм действия наночастиц золота еще предстоит понять, но он может быть физическим, химическим или биологическим. Необходимо ответить на множество вопросов, прежде чем вводить комплексы с наночастицами золота в клиническое применение. Существует огромный потенциал для использования наночастиц золота в терапии рака. Учитывая глобальный интерес к области нанотехнологий и, в частности, к области наномедицины, вполне вероятно, что многие из этих вопросов будут рассмотрены в ближайшее время.

Использованная литература

1) https://education.mrsec.wisc.edu/citrate-synthesis-of-gold-nanoparticles/
2) https://lifebio.wiki/наночастицы_золота
3) http://www.chemnet.ru/rus/theses/2015/2015-09-18-arkhipova/abstract.pdf
4) http://www.chem.msu.ru/rus/theses/2015/2015-09-18-arkhipova/fulltext.pdf
5) https://zolotodb.ru/article/10294
6) Видеоматериал: http://www.youtube.com/watch?v=urmi99jQSZY



Электронные микрофотографии наночастиц золота, стабилизированных цитратом натрия (а), бромидом цетилтриметиламмония (б) и 6,6-ионеном (в).